

Untersuchungen zur Wirkungsweise
der Hyaluronidasehemmung durch
Phenylbutazon

von

MARION HARTMANN

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Untersuchungen zur Wirkungsweise der Hyaluronidasehemmung
durch Phenylbutazon

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Marion Hartmann
aus
Passau
1959



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. K. Kolle

Tag der Mündlichen Prüfung: 16.6.1959

M e i n e r M u t t e r

Inhaltsverzeichnis

Problemstellung	4
Eigene Versuche	4
Methodik	4
Versuchsreihen	5
Statistische Auswertung	7
Diskussion	9
Zusammenfassung	12
Tabellenanhang	13
Literaturverzeichnis	26

Problemstellung

Mathies¹⁻⁵ und Mitarbeiter⁶⁻⁹ haben in früheren Versuchen feststellen können, daß der hyaluronidasehemmende Effekt als hyaluronidasehemmend bekannter Substanzen bei adrenaletomierten Tieren ausbleibt, bei hypophysektomierten Tieren dagegen erhalten ist. Diese Versuche wurden mit Acetylsalicylsäure, Prednisolon, Chloraethylbenzmethoxazon und Moorbädern durchgeführt. Phenylbutazon war in diese Versuche bisher noch nicht einbezogen worden. Domenjoz¹⁰ und andere haben die hyaluronidasehemmende Wirkung des Phenylbutazon bereits zeigen können. Auch hat Domenjoz¹⁰ nachgewiesen, daß die Ascorbinsäure- und Cholesterin-Abnahme der Nebenniere bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt. Falls in den hier vorgelegten Untersuchungen gezeigt werden könnte, daß auch unter Phenylbutazon nach Adrenaletomie die hyaluronidasehemmende Wirkung ausbleibt, dagegen bei hypophysektomierten Tieren nachweisbar ist, könnte daraus der Schluß gezogen werden, daß die inkretorische Funktion der Nebennierenrinde nicht für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung in vivo durch Phenylbutazon verantwortlich zu machen ist.

Die vorgelegten Versuche sollten damit zur Aufklärung der vorliegenden Verhältnisse dienen.

Eigene Versuche

Methodik

Es wurden durchweg weiße männliche Ratten im Gewicht von 150-200 g verwendet. Bei den Versuchsreihen 1-9 wurden die Tiere mit Evipan-Natrium (30 mg/100 g Ratte), bei den Reihen 10-12 mit Äther narkotisiert.

Die Hyaluronidasehemmung wurde durch einen auf dem Spreadingeffekt beruhenden Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeltest festgestellt. Es wurde vor und zu verschiedenen Zeiten nach s.c. Applikation der zu prüfenden Substanz je eine Quaddel mit 0,1 ccm einer 0,06%igen Evansblaulösung und eine solche mit 0,1ccm Farbstoff+Hyaluronidase gesetzt. Hierzu wurde eine Trockenampulle Hyaluronidase (Kinetin) mit 150 I.E. in 2 ccm der oben angegebenen, verdünnten Evansblaulösung gelöst, so daß in 0,1 ccm jeweils 7,5 I.E. injiziert wurden. Die Quaddeln wurden streng

intracutan mit einer sehr feinen Kanüle in die mit Pilca schonend enthaarte Bauchhaut gesetzt. Die Diffusionsgeschwindigkeit des Farbstoffes wurde 10 Minuten nach der Quaddelinjektion an der erreichten Ausbreitung gemessen. Die Konturen wurden auf einen durchsichtigen Zelluloidstreifen übertragen und dann planimetrisch ausgemessen. Nach *M a d i n a v e i t i a*¹¹ geht die Ausbreitung in zwei Phasen vor sich, bei welchen nur die erste, innerhalb 10 Minuten ablaufende Reaktion sicher ein Effekt der Hyaluronidase ist.

Die Adrenalektomie wurde in Äthernarkose durchgeführt. Die Tiere wurden nach 48 Stunden, in denen ihnen physiologische NaCl-Lösung als Trinkflüssigkeit gegeben wurde, für die Versuche verwendet. Nach diesem Intervall ist nach *K a r g*¹², *B a c h m a n n*¹³ und *C a n a l i s*¹⁴ eine Regeneration funktionstüchtigen akzessorischen Nebennierengewebes kaum zu befürchten.

Bei der Hypophysektomie wurden die Ratten mit Evipan-Natrium narkotisiert. Die Hypophyse wurde nach der parapharyngealen Methode extirpiert. Die Tiere wurden ebenfalls erst nach 48 Stunden, in denen mit Glukoselösung und Haferflocken ernährt wurde, in den Versuch genommen.

1. Versuchsreihe (Evipan-Narkose)

Bei Normaltieren wurde zuerst eine Farbstoff- und eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel in der oben angegebenen Methode gesetzt. Nachdem deren Ausdehnung nach 10 Minuten gemessen worden waren, bekamen die Tiere 20 mg Phenylbutazon (Butazolidin)/100 g Ratte in 2%iger Lösung s.c. injiziert. 40 Minuten nach der Phenylbutazon-Applikation wurde wiederum eine Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt und nach 10 Minuten abgelesen. Das Ergebnis wurde in der später angegebenen Rechenungsweise verwertet. Die 1. Versuchsreihe ergab eine Hyaluronidasehemmung von 19,8% (Tabelle 1 und 4).

2. Versuchsreihe (Evipan-Narkose)

Bei sonst gleicher Versuchsanordnung wurde dieses Mal erst 60 Minuten nach Phenylbutazon die Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidasequaddel gesetzt. Hemmung 62% (Tabelle 2 und 4).

3. Versuchsreihe (Evipan-Narkose)

Die Zeit nach Phenylbutazon wurde auf 90 Minuten erhöhte und dabei ergab sich eine Hemmung von 32,9% (Tabelle 3 und 4).

4. Versuchsreihe (Evipan-Narkose)

Da bei 60 Minuten nach Phenylbutazon eine maximale Hemmung zu verzeichnen war, wurde dieselbe Zeit auch bei einer geringeren Phenylbutazon-Dosis von 10 mg/100 g Ratte verwendet. Es ergab sich aber dabei mit -7,5% keine Hyaluronidasehemmung (Tabelle 5 und 8).

5. Versuchsreihe (Evipan-Narkose)

Die Zeit nach der Phenylbutazon-Injektion von 10 mg/100 g wurde auf 20 Minuten vermindert. Es ließ sich eine Hemmung von 27,6% feststellen (Tabelle 6 und 8).

6. Versuchsreihe (Evipan-Narkose)

180 Minuten nach 10 mg/100 g Phenylbutazon ist wieder ein Anstieg des Hemmwertes auf 44,3% zu sehen (Tabelle 7 und 8).

7. Versuchsreihe (Evipan-Narkose)

Bei 4 adrenaletomierten Tieren wurde 60 Minuten nach 20 mg Phenylbutazon/100 g Tier mit -43% keine Hemmung, eher eine Vergrößerung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel erreicht (Tabelle 9 und 10).

8. Versuchsreihe (Evipan-Narkose)

5 Tiere wurden hypophysektomiert. 60 Minuten nach 20 mg Phenylbutazon /100 g Tier konnte eine signifikante Hemmung von 42,7% festgestellt werden (Tabelle 11 und 12).

9. Versuchsreihe (Evipan-Narkose)

Um einen Beweis zu erbringen, daß die Hyaluronidasehemmung der einzelnen Versuchsreihen nicht auf einem Phenylbutazon-Injektionsschock beruht, wurde 4 Normaltieren unter sonst gleichen Versuchsbedingungen statt Phenylbutazon 1 ccm Aqua bidest/100 g Ratte s.c. gegeben. Die Menge entspricht der bei den Versuchsreihen mit Phenylbutazon injizierten Gesamtflüssigkeitsmenge. Bei 60 Minuten ließ sich mit 0% keine Hemmung feststellen (Tabelle 13 und 14).

10. Versuchsreihe (Äther-Narkose)

40 Minuten nach Phenylbutazon war eine schwache Hemmung von 8,9% zu verzeichnen (Tabelle 15 und 18).

11. Versuchsreihe (Äther-Narkose)

Bei 60 Minuten war mit 21,5% der Hemmwert etwas gestiegen (Tabelle 16 und 18).

12. Versuchsreihe (Äther-Narkose)

90 Minuten nach Phenylbutazon konnte eine Hemmung von 19,4% festgestellt werden (Tabelle 17 und 18).

Berechnung der prozentualen Hemmung

Zur Berechnung der prozentualen Hemmung wurde angenommen, daß die Ausbreitung der reinen Farbstoffquaddel vor der Phenylbutazon-Injektion einer 100%igen Hemmung (eine Farbstoff+Hyaluronidasequaddel mit vollständig gehemmter Hyaluronidase-Aktivität hätte die gleiche Größe), und diejenige der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor der Injektion einer 0%igen Hemmung entspricht. Unter Zugrundelegung dieser beiden Festpunkte wurde aus der Ausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach Phenylbutazon-Injektion die prozentuale Hemmung errechnet. Die Farbstoffquaddel nach der Phenylbutazon-Applikation diente lediglich der statistischen Feststellung, ob das Phenylbutazon auch auf die Farbstoffquaddel ohne Hyaluronidasebeigabe einen Einfluß ausübt.

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Der Einzelversuch an einem Versuchstier wickelte sich in 4 Versuchsstufen ab:

1. Versuchsstufe: Bestimmung der Ausbreitung einer reinen Farbstoff-Quaddel vor der Belastung.
2. Versuchsstufe: Bestimmung der Ausbreitung einer Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor der Belastung.
3. Versuchsstufe: Bestimmung der Ausbreitung einer reinen Farbstoff-Quaddel, die zu dem Zeitpunkt t nach der Belastung gesetzt wurde.
4. Versuchsstufe: Bestimmung der Ausbreitung einer Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel, die zu dem Zeitpunkt t nach der Belastung gesetzt wurde.

Gemessen wurde jeweils der Flächeninhalt der Quaddeln in mm^2 10 Minuten nach dem Setzen.

Die statistische Analyse der Versuchsergebnisse hatte zu prüfen, ob zwischen den einzelnen Versuchsstufen insgesamt Unterschiede bestehen, und hieran anschließend, ob speziell zwischen den beiden reinen Farbstoff-Quaddeln bzw. zwischen den beiden Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln statistisch gesicherte Unterschiede bestehen.

Mittelwerte $\bar{x}$, Varianzen s^2 und Streuungen s der Meßwerte jeder Versuchsstufe, sowie die Zahl der Tiere und die in der üblichen Weise

berechnete prozentuale Hyaluronidasehemmung können für jede Versuchsreihe aus den Tabellen 4, 8, 10, 12, 14, 18 entnommen werden. In der letzten Spalte dieser Tabellen ("Sicherung") ist außerdem bei denjenigen Versuchsreihen, für welche die Hyaluronidasehemmung im weiter unten angegebenen Sinne statistisch gesichert werden konnte, die Irrtumswahrscheinlichkeit angegeben, mit der diese Sicherung behaftet ist.

Für die eigentliche statistische Auswertung gingen wir von der Annahme aus, daß die an einem Tier bestimmte Ausdehnung einer Quaddel gewissen zufälligen Schwankungen unterworfen ist, die (m, σ) -normalverteilt sind. Von der Streuung dieser Normalverteilung nahmen wir außerdem an, daß sie von dem jeweiligen Tier und der jeweiligen Versuchsstufe unabhängig sei.

Von dem Erwartungswert m andererseits nahmen wir an, daß er in additiver Weise abhängt

1. vom Versuchstier und
2. von der Versuchsstufe.

Dementsprechend setzten wir an

$$(1) \quad m = a(Vt) + b(St),$$

wobei $a(Vt)$ eine nur von dem Versuchstier, jedoch nicht von der Versuchsstufe, $b(St)$ eine nur von der Versuchsstufe, jedoch nicht vom Versuchstier abhängige Größe ist. Im Sinne der oben dargelegten Fragestellung war nunmehr zu prüfen, ob zwischen den zu verschiedenen Versuchsstufen gehörigen Konstanten $b(St)$ statistisch gesicherte Unterschiede bestehen. Hierzu führten wir eine zweifache Varianz-Analyse durch. Die dabei ermittelten Varianz-Komponenten sind in den Tabellen 19-30 in der üblichen Weise zusammengestellt.

Die "Rest-Varianz" faßten wir als die plausibelste Schätzung der Varianz σ^2 der oben erwähnten Normalverteilung auf, und legten sie als Fehler-Varianz den weiteren Prüfungen zugrunde. Der Vergleich der "Varianz zwischen den Stufen" mit der "Rest-Varianz" mittels des F-Testes (Varianz-Quotienten-Test) ergibt in jedem Falle einen Varianz-Quotienten $F_{emp.}$ (s. Tabellen 19-30), der die 0,1% Sicherheitsgrenze der als Prüfverteilung zugehörigen F-Verteilung weit überschreitet. Zwischen den Versuchsstufen insgesamt, bestehen somit statistisch hochgesicherte Unterschiede.

Die Untersuchung der speziellen Fragen, ob zwischen den beiden reinen Farbstoffquaddeln bzw. zwischen den beiden Farbstoff+Hyaluronidase-Quad-

dern Unterschiede bestehen, führten wir im Anschluß an die Varianz-Analyse nach einem von D u n c a n ¹⁵ entwickelten Verfahren durch. Es ergab sich:

1. Die Unterschiede zwischen den beiden Farbstoffquaddeln sind in jedem Falle zufälliger Natur, liegen also im Rahmen der Fehlerbreite der Methode. Ein Einfluß der Medikamentation auf die Ausbreitung der Farbstoffquaddeln ist also nicht feststellbar.

2. Ein Unterschied zwischen der Ausbreitung der zwei Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln konnte nicht bei allen Versuchsreihen statistisch gesichert werden. Für diejenigen Versuchsreihen, bei denen dieses möglich war, wurde dieses in den Tabellen 4, 8, 10, 12, 14 und 18 in der bereits erwähnten Form zum Ausdruck gebracht. Nur für diese Versuchsreihen kann ein Einfluß der Medikamentation auf den Hyaluronidase-Effekt als statistisch gesichert gelten (mit der jeweils angegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit).

Abschließend sei erwähnt, daß bei einigen Versuchsreihen der Varianz-Quotient $F_{emp.}$ zwischen der "Varianz zwischen den Tieren" und der "Rest-Varianz" die 5%-Sicherheitsgrenze der zugehörigen F-Verteilung überschreitet. Die Tiere reagieren also teilweise auf verschiedenem Niveau, d.h. die Ausbreitung der Quaddeln ist wesentlich von der individuellen Variabilität der Versuchstiere abhängig.

Diskussion

Die Ergebnisse der Versuchsreihen 1-3 bestätigen die von Phenylbutazon bereits bekannte hyaluronidasehemmende Wirkung auch mit der angewandten Methodik. Das Maximum der Hemmung liegt 60 Minuten nach Phenylbutazon-Applikation. Zum Vergleich mit der angewandten Dosis mit 20 mg/100 g Tier wurde die Dosis auf die Hälfte herabgesetzt, wobei festgestellt werden konnte, daß auch mit dieser Dosis eine statistisch faßbare Hyaluronidasehemmung erzielt werden konnte, deren Maximum jedoch erst bei 180 Minuten p.I. erreicht wurde. Nicht ausgewertete Versuche mit 20 mg/100 g Tier Butazolidin hatten ergeben, daß 180 Minuten p.I. keine Hyaluronidasehemmung mehr auftritt. Allerdings ist zu bemerken, daß bei einer Dosis von 10 mg auch bei 20 Minuten p.I. bereits eine statistisch faßbare, wenn auch geringere Hemmung festzustellen ist. Versuche von V o g e l ¹⁶ und W e i s s ¹⁷ am Menschen ließen erkennen, daß die Hyaluronidasehemmung im Sinne eines Regulationsverhaltens verläuft, d.h. daß nach Abklingen der Hemmung wieder Hemmungen meßbar sind, wobei die Frequenz individuell oft recht unterschiedlich sein kann. Nur am Anfang

des Kurvenverlaufs ist an einzelnen Individuen die Hemmung auch im Durchschnittswert eklatant.

Unsere Versuche mit verschiedenen Phenylbutazon-Dosen besagen demnach, daß sowohl mit 10 als auch mit 20 mg/100 g Tier eine deutliche Hemmung der gleichen Größenordnung festzustellen ist.

Die Versuche der Versuchsreihen 9 und 10 (adrenalektomierte und hypophysektomierte Ratten) wurden mit 20 mg/100 g Tier durchgeführt und zwar zu den Zeiten bei denen unter dieser Dosis bei Normaltieren die stärkste Hemmung aufgetreten ist (60 Minuten p.l.). Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen zeigen, daß die Hyaluronidasehemmung bei adrenalektomierten Tieren ausbleibt bzw. sogar einen stark negativen Wert annimmt, der als solcher statistisch allerdings nicht gesichert werden konnte. Dieses Verhalten wurde auch von D o m e n j o z ¹⁰ in seinen Versuchen bereits beobachtet, ohne daß eine Erklärung dafür bisher gegeben werden konnte. Zumindest kann gesagt werden, daß bei adrenalektomierten Tieren eine Hyaluronidasehemmung nicht festgestellt werden kann.

Die Hyaluronidasehemmung bei hypophysektomierten Tieren ist mit 43% statistisch gesichert. Es kann also festgestellt werden, daß das bei Acetylsalicylsäure ^{1,2,6}, Chloraethylbenzmethoxazon ^{4,8}, Prednisolon ^{3,7} und Moorbädern ^{5,9} festgestellte Verhalten des Ausbleibens der Hyaluronidasehemmung bei adrenalektomierten Ratten bei Erhaltensein des hemmenden Effektes bei hypophysektomierten Tieren auch unter Phenylbutazon bestätigt werden kann.

Da bei T h e o b a l d u. D o m e n j o z ¹⁸ die Ascorbinsäure- und Cholesterindepletion, die als Ausdruck der inkretorischen Funktion der Nebennierenrinde angesehen wird, bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt, obwohl nach unseren Versuchen die Hyaluronidasehemmung erhalten ist, muß daraus gefolgert werden, daß auch unter Phenylbutazon die Funktion der Nebennierenrinde nicht für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung verantwortlich zu machen ist. Bei entsprechenden Versuchen mit anderer Methodik stellten T h e o b a l d u. D o m e n j o z ¹⁸ fest, daß die Hemmung des künstlichen Formalin-Ödems der Rattenpfote unter Phenylbutazon bei adrenalektomierten Ratten nur teilweise ausbleibt. Unsere Versuche haben gezeigt, daß dieses bei der Hyaluronidasehemmung im Gegensatz zur Hemmung des Formalin-Ödems keine Gültigkeit hat.

Die Hemmung durch Phenylbutazon ist demnach wohl an die Anwesenheit der Nebenniere, jedoch nicht an die inkretorische Funktion der Nebennieren-

rinde gebunden. Es bleibt demnach anzunehmen, daß dem Nebennierenmark hierbei eine Bedeutung zukommt. Diese Ansicht wird gestützt durch die Versuche von S c h e u f e l e ¹⁹, nach denen die Hormone des Nebennierenmarkes, Adrenalin und Noradrenalin, in Dosen über 0,5 μ pro Tier auch bei adrenaletomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung gleicher Größenordnung bedingen.

Mit Ergotamintartrat ist die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins und Noradrenalins zu blockieren ²⁰. Auch nach Natriumsalicylat, Prednisolon und Moorbädern tritt die hyaluronidasehemmende Wirkung nicht auf, wenn vorher Ergotamintartrat injiziert wurde (S c h m i d t ²⁰, P o u l a n t z a s ²¹ und L i n g n a u ²²). Diese Versuche sind mit Phenylbutazon noch nicht durchgeführt worden, es ist jedoch anzunehmen, daß diese Feststellung für die hyaluronidasehemmende Wirkung in vivo hemmender Substanzen Allgemeingültigkeit hat. Wie bei Acetylsalicylsäure (v. K u e p a c h ²³), Chloraethylbenzmethoxazon (v. W e r t h e r ²⁴), Hydrocortison (W i e s m ü l l e r ²⁵) und Moorbädern (K a i s e r ²⁶) konnte B i e c h e l e ²⁷ auch nach Phenylbutazon durch Bestimmung des Katecholamingehaltes der Nebenniere eine Katecholaminausschüttung aus der Nebenniere direkt sichtbar machen.

Aus Vergleichsgründen wurde die Hemmung 60 Minuten nach der Injektion von Aqua bidest. bestimmt, die keine Hemmung erbrachte. Eine Wirkung der Injektionsbelastung konnte damit ausgeschlossen werden.

In Vorversuchen wurden die Tiere statt mit Evipan-Natrium mit Äther nar-
kotisiert. Da wir hier keine faßbare Hyaluronidasehemmung feststellen zu
können glaubten, sollten die hier vorliegenden Verhältnisse in den Ver-
suchsreihen 15-17 näher aufgeklärt werden. Wir sahen, daß unter 20 mg
Phenylbutazon 60 Minuten nach der Injektion die relativ stärkste Hemmung
festgestellt werden konnte, die aber statistisch nicht zu sichern war.
Es lag zunächst der Gedanke nahe, dem Evipan-Natrium einen hyaluronidase-
hemmenden Effekt zuzuschreiben. W i l h e l m i ²⁸ stellte jedoch be-
reits fest, daß Barbiturate keinen Einfluß auf die Hyaluronidasehemmung
besitzen. Auch zeigen unsere Versuche mit Aqua bidest-Injektionen, daß
der hyaluronidasehemmende Effekt, den wir unter Phenylbutazon sahen,
nicht durch die Barbituratnarkose hervorgerufen sein konnte. Es ist not-
wendig, daß die Tiere sich während des Versuches absolut ruhig verhalten,
um Spannungen der Bauchhaut zu vermeiden, die einen Einfluß auf die Aus-
breitung des Farbstoffs haben können. Diese Gewähr ist unter einer
Äthernarkose nicht gegeben. Wir halten es für möglich, daß die Abweichun-

gen von den unter Evipan-Narkose gegebenen Verhältnissen dadurch zu erklären sind. Wir können bisher nicht sagen, ob eine Äthernarkose als solche eine Hemmung der Hyaluronidase blockiert. Jedenfalls sollte die Durchführung dieser Versuche dazu dienen, um aufzuzeigen, daß entsprechende Untersuchungen zur Bestimmung der Hyaluronidaseaktivität stets in Barbituratnarkose vorgenommen werden sollten.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß die unter 20 mg Phenylbutazon/100 g Ratte auftretende Hyaluronidasehemmung, gemessen mit einem Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeltest, bei adrenaletomierten Tieren ausbleibt, bei hypophysektomierten Tieren dagegen erhalten ist. Im Zusammenhang mit Versuchen von D o m e n j o z , nach denen die Ascorbinsäure- und Cholesterindepletion der Nebenniere unter Phenylbutazon bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt, muß aus unseren Versuchen geschlossen werden, daß nicht die inkretorische Funktion der Nebennierenrinde, sondern eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung verantwortlich gemacht werden muß. Diese Ansicht wird durch weitere Untersuchungen von M a t h i e s und Mitarbeitern gestützt.

Vergleichsversuche mit der Injektion von 10 mg Phenylbutazon/100 g Tier zeigen, daß auch mit dieser Dosis eine Hyaluronidasehemmung gleicher Größenordnung zu erzielen ist, wenn auch der zeitliche Ablauf unterschiedlich zu sein scheint. Untersuchungen mit Aqua bidest.-Injektionen ergaben, daß der hyaluronidasehemmende Effekt nicht auf einen Injektionsschock zurückzuführen ist.

Die Versuche wurden in Evipan-Natrium-Narkose durchgeführt, die die besten Voraussetzungen für eine reibungslose Durchführung der Versuche gewährleistet. Unter Äthernarkose waren keine eindeutigen Ergebnisse zu erreichen, was auf eine nicht vermeidbare Unruhe der Tiere während des Versuches zurückgeführt wurde. Ein Einfluß von Evipan-Natrium auf die Hyaluronidasehemmung konnte ausgeschlossen werden.

Tabellenanhang

Versuchs- reihe	Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor	40'nach	vor	40'nach
			20mg Phenylbutazon/100gTier s.c.(Evipannark.)			
1 (intakte Ratten)	1	155	108 mm ²	92 mm ²	176 mm ²	144 mm ²
	2	180	120 mm ²	88 mm ²	204 mm ²	176 mm ²
	3	170	140 mm ²	108 mm ²	228 mm ²	180 mm ²
	4	190	120 mm ²	120 mm ²	176 mm ²	200 mm ²
	5	215	88 mm ²	132 mm ²	220 mm ²	180 mm ²
	6	180	108 mm ²	108 mm ²	184 mm ²	160 mm ²
	7	189	96 mm ²	116 mm ²	168 mm ²	188 mm ²
	8	160	100 mm ²	96 mm ²	144 mm ²	156 mm ²
	9	160	104 mm ²	112 mm ²	200 mm ²	184 mm ²
	10	160	88 mm ²	116 mm ²	132 mm ²	120 mm ²

Tabelle 1

Versuchs- reihe	Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor 20mg Phenylbutazon	60'nach	vor	60'nach
100gTier s.c.(Evipannark.)						
2 (intakte Ratten)	1	150	88 mm ²	120 mm ²	176 mm ²	132 mm ²
	2	186	112 mm ²	96 mm ²	160 mm ²	108 mm ²
	3	167	140 mm ²	84 mm ²	184 mm ²	92 mm ²
	4	156	88 mm ²	96 mm ²	160 mm ²	120 mm ²
	5	151	112 mm ²	92 mm ²	168 mm ²	116 mm ²
	6	180	120 mm ²	116 mm ²	192 mm ²	152 mm ²
	7	200	120 mm ²	116 mm ²	208 mm ²	152 mm ²
	8	207	108 mm ²	92 mm ²	180 mm ²	148 mm ²
	9	180	104 mm ²	112 mm ²	176 mm ²	116 mm ²
	10	206	96 mm ²	112 mm ²	168 mm ²	192 mm ²

Tabelle 2

Versuchs- reihe	Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor	90'nach	vor	90'nach
			20mg Phenylbutazon/100gTier s.c. (Evipannark.)			
3 (intakte Ratten)	1	180	96 mm ²	100 mm ²	184 mm ²	156 mm ²
	2	200	96 mm ²	100 mm ²	192 mm ²	168 mm ²
	3	188	100 mm ²	100 mm ²	192 mm ²	208 mm ²
	4	178	88 mm ²	112 mm ²	200 mm ²	164 mm ²
	5	180	80 mm ²	108 mm ²	192 mm ²	108 mm ²

Tabelle 3

Versuchs- reihe	Zeit- punkt		Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyasequaddel		N	Hyase- hem- mung	Siche- rung
			vor	nach	vor	nach			
			20 mg Phenylbutazon/100 g Tier s.c. (Evipan-Narkose)						
1 (intakte Ratten)	40'	$\bar{x}$	107 mm ²	109 mm ²	183 mm ²	169 mm ²	10	18,9%	-
		s ²	259	184	952	568			
		s	16,1	13,6	30,8	23,8			
2 (intakte Ratten)	60'	$\bar{x}$	109 mm ²	104 mm ²	177 mm ²	133 mm ²	10	64,9%	1,0%
		s ²	256	165	221	831			
		s	16,0	12,8	14,9	28,8			
3 (intakte Ratten)	90'	$\bar{x}$	92 mm ²	104 mm ²	192 mm ²	160 mm ²	5	31,2%	5,0%
		s ²	64	32	32	1275			
		s	8,0	5,7	5,7	35,7			

Tabelle 4

Versuchsreihe	Tier Nr.	Tiergewicht in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor	60'nach	vor	60'nach
			10mg Phenylbutazon/100gTier s.c. (Evipannark.)			
4 (intakte Ratten)	1	183	92 mm ²	104 mm ²	188 mm ²	196 mm ²
	2	186	120 mm ²	136 mm ²	176 mm ²	188 mm ²
	3	157	112 mm ²	100 mm ²	196 mm ²	180 mm ²
	4	180	128 mm ²	116 mm ²	200 mm ²	200 mm ²
	5	184	108 mm ²	128 mm ²	212 mm ²	240 mm ²

Tabelle 5

Versuchsreihe	Tier Nr.	Tiergewicht in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor	20'nach	vor	20'nach
			10mg Phenylbutazon/100gTier s.c. (Evipannark.)			
5 (intakte Ratten)	1	180	124 ² _{mm}	132 ² _{mm}	200 ² _{mm}	192 ² _{mm}
	2	175	132 ² _{mm}	128 ² _{mm}	220 ² _{mm}	200 ² _{mm}
	3	185	136 ² _{mm}	140 ² _{mm}	204 ² _{mm}	180 ² _{mm}
	4	165	120 ² _{mm}	120 ² _{mm}	212 ² _{mm}	180 ² _{mm}

Tabelle 6

Versuchsreihe	Tier Nr.	Tiergewicht in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor	180' nach	vor	180' nach
			10mg Phenylbutazon/100g Tier		s.c. (Evipannark.)	
6 (intakte Ratten)	1	180	120 mm ²	128 mm ²	280 mm ²	156 mm ²
	2	175	132 mm ²	136 mm ²	212 mm ²	204 mm ²
	3	185	136 mm ²	132 mm ²	200 mm ²	180 mm ²
	4	165	120 mm ²	120 mm ²	200 mm ²	180 mm ²

Tabelle 7

Versuchsreihe	Zeitpunkt		Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel		N	Hyasehemmung	Sicherung
			vor	nach	vor	nach			
			10 mg Phenylbutazon/100 g Tier		s.c. (Evipan-Narkose)				
5 (intakte Ratten)	20'	$\bar{x}$	128 mm ²	130 mm ²	209 mm ²	188 mm ²			
		s ²	53	69	78	96			
		s	7,3	8,3	8,8	9,8	4	25,9%	1,0%
4 (intakte Ratten)	60'	$\bar{x}$	112 mm ²	116 mm ²	194 mm ²	200 mm ²			
		s ²	184	235	180	539			
		s	13,6	15,3	13,4	23,2	5	7,8%	-
6 (intakte Ratten)	180'	$\bar{x}$	127 mm ²	126 mm ²	223 mm ²	180 mm ²			
		s ²	68	46	1476	384			
		s	8,2	6,8	38,5	19,6	4	44,8%	5,0%

Tabelle 8

Versuchs- reihe	Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor	60'nach	vor	60'nach
			20mg Phenylbutazon/100gTier s.c. (Evipannark.)			
7 (adre- nalekt. Ratten)	1	188	92 mm ²	92 mm ²	200 mm ²	220 mm ²
	2	174	100 mm ²	100 mm ²	148 mm ²	220 mm ²
	3	140	96 mm ²	104 mm ²	156 mm ²	164 mm ²
	4	150	120 mm ²	120 mm ²	168 mm ²	180 mm ²

Tabelle 9

Versuchs- reihe	Zeit- punkt		Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel		N	Hyase- hem- mung	Siche- rung
			vor	nach	vor	nach			
			20 mg Phenylbutazon/100 g Tier s.c. (Evipan-Narkose)						
7 (adre- nalekt. Ratten)	60'	$\bar{x}$	102 mm ²	104 mm ²	168 mm ²	196 mm ²			
		s ²	155	138	523	811	4	-42,4%	-
		s	12,4	11,7	22,9	28,5			

Tabelle 10

Versuchs- reihe	Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor	60'nach	vor	60'nach
			20mg Phenylbutazon/100gTier s.c. (Evipannark.)			
8 (hypo- physekt. Ratten)	1	152	108 mm ²	120 mm ²	240 mm ²	200 mm ²
	2	192	120 mm ²	116 mm ²	220 mm ²	168 mm ²
	3	150	120 mm ²	120 mm ²	220 mm ²	160 mm ²
	4	200	152 mm ²	152 mm ²	240 mm ²	200 mm ²
	5	220	136 mm ²	120 mm ²	228 mm ²	200 mm ²

Tabelle 11

Versuchsreihe	Zeitpunkt	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel		N	Hyasehemmung	Sicherung	
		vor	nach	vor	nach				
		20 mg Phenylbutazon/100 g Tier s.c. (Evipan-Narkose)							
8 (hypo- physekt. Ratten)	60'	$\bar{x}$	127 mm ²	125 mm ²	229 mm ²	185 mm ²	5	43,0%	1,0%
		s ²	291	221	101	397			
		s	17,1	14,7	10,0	19,9			

Tabelle 12

Versuchsreihe	Tier Nr.	Tiergewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor	60'nach	vor	60'nach
			1ccm Aqua bidest./100g Tier s.c. (Evipannark.)			
9 (intakte Ratten)	1	178	120 mm ²	120 mm ²	220 mm ²	200 mm ²
	2	210	132 mm ²	124 mm ²	172 mm ²	200 mm ²
	3	168	140 mm ²	132 mm ²	240 mm ²	200 mm ²
	4	200	108 mm ²	108 mm ²	200 mm ²	228 mm ²

Tabelle 13

Versuchsreihe	Zeitpunkt		Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel		N	Hyasehem-	Sicherung
			vor	nach	vor	nach			
			1 ccm Aqua bidest./100 g Tier s.c. (Evipan-Narkose)						
9 (intakte Ratten)	60'	$\bar{x}$	125 mm ²	121 mm ²	208 mm ²	207 mm ²	4	1,2%	-
		s ²	196	100	842	196			
		s	14,0	10,0	29,0	14,0			

Tabelle 14

Versuchs- reihe	Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor	40'nach	vor	40'nach
			20mg Phenylbutazon/100gTier s.c.		(Äthernarkose)	
10 (intakte Ratten)	1	185	116 mm ²	116 mm ²	200 mm ²	216 mm ²
	2	188	116 mm ²	100 mm ²	208 mm ²	212 mm ²
	3	186	112 mm ²	108 mm ²	232 mm ²	240 mm ²
	4	173	96 mm ²	100 mm ²	200 mm ²	240 mm ²
	5	163	100 mm ²	112 mm ²	220 mm ²	188 mm ²
	6	174	96 mm ²	104 mm ²	200 mm ²	184 mm ²
	7	185	100 mm ²	120 mm ²	252 mm ²	220 mm ²
	8	165	112 mm ²	80 mm ²	232 mm ²	232 mm ²
	9	163	104 mm ²	80 mm ²	224 mm ²	248 mm ²
	10	175	108 mm ²	100 mm ²	208 mm ²	188 mm ²
	11	196	116 mm ²	100 mm ²	236 mm ²	228 mm ²
	12	180	80 mm ²	100 mm ²	200 mm ²	200 mm ²
	13	187	116 mm ²	96 mm ²	164 mm ²	152 mm ²
	14	184	100 mm ²	80 mm ²	200 mm ²	168 mm ²
	15	182	104 mm ²	80 mm ²	220 mm ²	148 mm ²

Tabelle 15

Versuchs- reihe	Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor 20mg Phenylbutazon	60'nach	vor 100gTier s.c. (Äthernark.)	60'nach
(intakte Ratten)	1	153	80 mm ²	68 mm ²	148 mm ²	136 mm ²
	2	168	80 mm ²	92 mm ²	168 mm ²	184 mm ²
	3	157	116 mm ²	96 mm ²	256 mm ²	244 mm ²
	4	162	96 mm ²	96 mm ²	192 mm ²	192 mm ²
	5	158	108 mm ²	84 mm ²	184 mm ²	164 mm ²
	6	153	100 mm ²	100 mm ²	188 mm ²	160 mm ²
	7	190	120 mm ²	96 mm ²	200 mm ²	168 mm ²
	8	166	108 mm ²	112 mm ²	172 mm ²	256 mm ²
	9	164	112 mm ²	120 mm ²	200 mm ²	220 mm ²
	10	190	96 mm ²	108 mm ²	228 mm ²	180 mm ²
	11	190	100 mm ²	100 mm ²	168 mm ²	128 mm ²
	12	215	100 mm ²	108 mm ²	212 mm ²	196 mm ²
	13	175	108 mm ²	80 mm ²	180 mm ²	116 mm ²
	14	154	104 mm ²	96 mm ²	172 mm ²	152 mm ²

Tabelle 16

Versuchs- reihe	Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
			vor 20mg Phenylbutazon	90'nach	vor 100gTier s.c. (Äthernark.)	90'nach
(intakte Ratten)	1	200	96 mm ²	132 mm ²	164 mm ²	200 mm ²
	2	160	116 mm ²	112 mm ²	184 mm ²	184 mm ²
	3	155	120 mm ²	116 mm ²	200 mm ²	196 mm ²
	4	168	116 mm ²	92 mm ²	240 mm ²	148 mm ²
	5	150	96 mm ²	100 mm ²	220 mm ²	136 mm ²
	6	163	112 mm ²	108 mm ²	196 mm ²	256 mm ²
	7	182	116 mm ²	92 mm ²	228 mm ²	232 mm ²
	8	156	112 mm ²	116 mm ²	184 mm ²	160 mm ²
	9	170	100 mm ²	80 mm ²	188 mm ²	156 mm ²
	10	144	100 mm ²	112 mm ²	160 mm ²	180 mm ²
	11	150	100 mm ²	100 mm ²	176 mm ²	172 mm ²
	12	196	92 mm ²	108 mm ²	188 mm ²	152 mm ²
	13	170	80 mm ²	96 mm ²	156 mm ²	160 mm ²
	14	152	100 mm ²	140 mm ²	196 mm ²	204 mm ²

Tabelle 17

Versuchsreihe	Zeitpunkt	Farbstoff-Quaddel				N	Hyasehemmung	Sicherung
		vor	nach	vor	nach			
		20 mg Phenylbutazon/100 g Tier s.c. (Äthernarkose)						
10 (intakte Ratten)	40'	$\bar{x}$ s ² s	105 mm ² 104 10,2	98 mm ² 175 13,2	213 mm ² 449 21,2	204 mm ² 1030 32,1	15 8,1%	-
11 (intakte Ratten)	60'	$\bar{x}$ s ² s	102 mm ² 137 11,7	96 mm ² 180 13,4	162 mm ² 769 27,7	178 mm ² 1706 41,3	14 13,9%	-
12 (intakte Ratten)	90'	$\bar{x}$ s ² s	104 mm ² 132 11,5	107 mm ² 255 15,9	191 mm ² 615 24,8	181 mm ² 1146 33,9	14 11,8%	-

Tabelle 18

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	9	8.568	952	2,82
Zwischen den Stufen	3	47.290	15.763	46,77
Rest-Varianz	27	9.102	337	
Gesamt-Varianz	39	64.960	1.666	

Tabelle 19
(Versuchsreihe 1)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	9	4.586	510	1,59
Zwischen den Stufen	3	33.806	11.269	35,10
Rest-Varianz	27	8.666	321	
Gesamt-Varianz	39	47.058	1.207	

Tabelle 20
(Versuchsreihe 2)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	4	1.691	423	1,29
Zwischen den Stufen	3	33.526	11.175	34,17
Rest-Varianz	12	3.921	327	
Gesamt-Varianz	19	39.138	1.957	

Tabelle 21
(Versuchsreihe 3)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	4	1.936	484	2,22
Zwischen den Stufen	3	34.771	11.590	53,16
Rest-Varianz	12	2.621	218	
Gesamt-Varianz	19	39.328	2.070	

Tabelle 22
(Versuchsreihe 4)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	3	307	102	1,57
Zwischen den Stufen	3	20.211	6.737	103,65
Rest-Varianz	9	585	65	
Gesamt-Varianz	15	21.103	1.407	

Tabelle 23.
(Versuchsreihe 5)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	3	723	241	-
Zwischen den Stufen	3	25.315	8.438	14,60
Rest-Varianz	9	5.201	578	
Gesamt-Varianz	15	31.239	2.083	

Tabelle 24
(Versuchsreihe 6)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	3	996	332	-
Zwischen den Stufen	3	26.540	8.847	20,53
Rest-Varianz	9	3.884	431	
Gesamt-Varianz	15	31.420	2.094	

Tabelle 25
(Versuchsreihe 7)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	4	2.568	642	5,26
Zwischen den Stufen	3	37.814	12.605	103,32
Rest-Varianz	12	1.470	122	
Gesamt-Varianz	19	41.852	2.203	

Tabelle 26
(Versuchsreihe 8)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	3	995	332	-
Zwischen den Stufen	3	28.595	9.532	28,54
Rest-Varianz	9	3.009	334	
Gesamt-Varianz	15	32.599	2.173	

Tabelle 27
(Versuchsreihe 9)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	14	9.818	701	1,99
Zwischen den Stufen	3	172.435	57.478	163,29
Rest-Varianz	42	14.796	352	
Gesamt-Varianz	59	197.049	3.340	

Tabelle 28
(Versuchsreihe 10)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	13	18.636	1.433	3,16
Zwischen den Stufen	3	102.392	34.131	75,34
Rest-Varianz	39	17.660	453	
Gesamt-Varianz	55	138.688	2.522	

Tabelle 29
(Versuchsreihe 11)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Tieren	13	9.520	732	1,55
Zwischen den Stufen	3	91.708	30.569	64,76
Rest-Varianz	39	18.420	472	
Gesamt-Varianz	55	119.648	2.175	

Tabelle 30
(Versuchsreihe 12)

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35 (1957), 892
- 2) Mathies, H.: Arzneim. Forsch. 8 (1958), 233
- 3) Mathies, H.: Zschr. f. ges. exper. Med. im Druck
- 4) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Arzneim. Forsch. eingereicht
- 5) Mathies, H.: in Vorbereitung
- 6) Jankowski, A.: Dissertation München 1957
- 7) Schlierf, G.: Dissertation München in Vorbereitung
- 8) Gerson, U.: Dissertation München in Vorbereitung
- 9) Rösch, U.: Dissertation München in Vorbereitung
- 10) Domenjoz, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 225 (1955), 14
- 11) Madinaveitia, J.: Biochemic. J. 32 (1938), 1806
- 12) Karg, H.: persönliche Mitteilung
- 13) Bachmann, R.: Handbuch der mikrosk. Anatomie des Menschen VI/5
(1954), 222 ff., Springer, Berlin/Göttingen/Heidelberg
- 14) Canalis, P.: Intern. Mschr. Anat. 4 (1887a) 312 zit. Bachmann(13)
- 15) Duncan, P.B.: Multiple Range and Multiple F Tests, Biometrics,
Vol. 11, S.1-42
- 16) Vogel, M.: Dissertation München in Vorbereitung
- 17) Weiss, G.: Dissertation München in Vorbereitung
- 18) Theobald, W. u. Domenjoz, R.: Arch. int. phamacodyn., CIV, (1956), 453
- 19) Scheufele, R.: Dissertation München 1958
- 20) Schmidt, D.: Dissertation München in Vorbereitung
- 21) Poulantzas, J.: Dissertation München 1958
- 22) Lingnau, W.: Dissertation München in Vorbereitung
- 23) Kuepach, M. v.: Dissertation München 1958
- 24) Werther, G. v.: Dissertation München 1958
- 25) Wiesmüller, J.: Dissertation München in Vorbereitung
- 26) Kaiser, I.: Dissertation München 1958
- 27) Biechele, I.: Dissertation München in Vorbereitung
- 28) Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz (10)

Herrn Prof. Dr. W. Seitz danke ich für die Überlassung des Themas und Herrn Dr. H. Mathies für die Darlegung der Problematik und die Überwachung der Versuche. Herrn Dipl. Math. K. Liebrich bin ich für die Durchführung der statistischen Berechnungen dankbar. Der Fa. Geigy A.G. danke ich für die gewährte Unterstützung und die zur Verfügung gestellte Versuchsmenge des Phenylbutazon (Butazolidin).

Am 9.6.1935 wurde ich in Ingolstadt geboren. 1941 begann ich in Wien die Volksschule, die ich in Passau fortsetzte, nachdem mein Vater noch im selben Jahr gefallen war. Im Dezember 1945 trat ich in die Oberrealschule für Mädchen in Passau-Niedernburg ein. Ich verließ sie im Juli 1953, nachdem ich dort das Abitur gemacht hatte. Im darauf folgenden Winter 1953/54 begann ich an der Phil.-Theol. Hochschule Passau das Studium der Naturwissenschaften und ging im nächsten Semester nach München, wo ich mich in der Medizinischen Fakultät einschrieb. Im Frühjahr 1956 bestand ich hier die ärztliche Vorprüfung und im Sommer 1957 begann ich an der Medizinischen Poliklinik der Universität München mit meiner Dissertationsarbeit. 1959 beschloß ich mein Studium mit der ärztlichen Prüfung.

